اندازه‌گیری و مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی و شیمیایی بقایای گیاهی مختلف

جواد عبدالهی قره‌کند [۱]، ابراهیم سپهر [۲]، ولی فیضی اصل [۳]
۱- دانشجوی دکتری خاکشناسی دانشگاه ارومیه، ۲- دانشیار گروه علوم خاک دانشگاه ارومیه، ۳- استادیار موسسه تحقیقات کشاورزی دیم

چکیده
به منظور تعیین پارامترهای بیوشیمیایی بقایای گیاهی مختلف و همچنین مقایسه دو روش متفاوت برای اندازه‌گیری سلولز و لیگنین، ۵ نوع بقایای گیاهی شامل گندم، ذرت، آفتابگردان، ماشک و شبدر انتخاب شدند. نتایج نشان داد که اختلاف بین نمونه‌های گیاهی از لحاظ سلولز استخراج شده به وسیله اسید سولفوریک و پرمنگنات پتاسیم، همی‌سلولز، خاکستر، نیتروژن کل، نسبت C/N و مقدار ترکیبات محلول در آب از لحاظ آماری معنی‌دار بود. لیگنین اندازه‌گیری شده با روش پرمنگنات پتاسیم برای تمامی بقایا بیشتر از روش اسید سولفوریک بود. بقایای آفتابگردان بیشترین مقدار سلولز، لیگنین و خاکستر را داشت. شبدر بالاترین میزان همی‌سلولز و ماشک بیشترین محتوی سلولی (Cell Content) و نیتروژن کل را دارا بود. کربن بقایا اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ولی درصد نیتروژن کل بقایا بسیار متفاوت از یکدیگر بود، لذا می‌توان استنباط نمود که اختلافی که بین نسبت C/N بقایای گیاهان مورد مطالعه وجود دارد، بیشتر ناشی از اختلاف نیتروژن آنهاست.

واژه های کلیدی: بیوشیمیایی، بقایای گیاهی، لیگنین، سلولز، C/N

مقدمه
یکی از مهمترین محدودیت‌های خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان پایین بودن مقدار ماده آلی آنها است (Raiesi, ۲۰۰۶). در بیش از ۶۰ درصد از زمین‌های کشاورزی کشور مقدار ماده آلی اغلب کمتر از یك درصد است (کلباسی، ۱۳۷۵). مدیریت درست بقایای گیاهی در این مناطق باعث افزایش کربن آلی خاک و افزایش پایداری خاکدانه‌ها، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک و زیست‌فراهمی عناصر غذایی و کاهش وابستگی اکوسیستم‌های کشاورزی به منابع کودهای شیمیایی و سرانجام حفظ و افزایش پایداری اکوسیستم می‌گردد (Martens, ۲۰۰۰). تحقیقات نشان داده است که کیفیت و ترکیب شیمیایی بازمانده‌های گیاهی (لیگنین، سلولز، همی‌سلولز، ترکیبات محلول در آب، نسبت C/N و ....) تاثیر شگرفی در تجزیه بقایای گیاهی و زیست‌فراهمی عناصر غذایی خاک دارند (Palm et al, ۲۰۰۱; Raiesi, ۲۰۰۶). بقایای گیاهی با کیفیت مطلوب‌تر از لحاظ تجزیه‌ای (مقدار نیتروژن بالا، لیگنین پایین، مقادیر پایین سلولز، ترکیبات پلی فنلی، C/N و Lignin/N) اغلب سرعت تجزیه و معدنی شدن نیتروژن بالایی دارند (Raiesi, ۱۹۹۸). نتایج مطالعات Raiesi (۱۹۹۸) نشان می‌دهد که تجزیه بقایای گیاهی بوسیله مقادیر نیتروژن، لیگنین و نسبت C/N بقایا کنترل می‌شود. نسبت لیگنین به نیتروژن (Lignin / N) در بقایای گیاهی نیز اغلب به عنوان یك فاکتور پیش‌بینی کننده خوب برای سرعت تجزیه بقایای گیاهی می‌باشد (Scott and Binkiey, ۱۹۹۷). شیمی بقایای گیاهی و لاشبرگ‌ها، شامل تغییرات نیتروژن (N)، فسفر (P)، سلولز (Cellulose)، همی‌سلولز (Hemicellulose)، لیگنین (Lignin)، نسبت لیگنین به نیتروژن (Lignin / N) و نسبت C/N نه تنها مقدار تجزیه بقایای گیاهی و لاشبرگ‌ها بلکه چرخه عناصر غذایی را هم تحت تأثیر قرار می‌دهند (Scott and Binkley, ۱۹۹۷). بنابراین برای بهره‌وری بیشتر از بقایای گیاهی در سیستم‌های زراعی و شناخت بیشتر فرایندهای تجزیه بقایای گیاهی و عوامل تاثیرگذار بر تجزیه این مواد و سرعت آزادسازی عناصر غذایی ضروری، تعیین ترکیب شمیایی بقایای گیاهی استرتژیک و مهم در هر منطقه ضروری است.

مواد و روش‌ها
به منظور تعیین ترکیب شمیایی و فرکشن‌های مختلف بقایای گیاهی و همچنین مقایسه دو روش متفاوت برای اندازه‌گیری سلولز و لیگنین، ۵ نوع پسماند گیاهی شامل کاه و کلش گندم (*Triticum aestivum* L.)، ساقه ذرت (*Zea mays* L.)، ساقه آفتابگردان (*Helianthus annuus*)، ماشک (*Vicia villosa*) و شبدر (*Trifolium repens*) در زمان برداشت این گیاهان از استان‌های آذربایجان شرقی و غربی تهیه شد. نمونه‌های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد خشک، سپس آسیاب و از الک ۱ میلیمتری عبور داده شدند. خاکستر (Ash) نمونه‌ها به روش سوزاندن در کوره، کربن آلی به روش اکسیداسیون مرطوب در مجاورت بی‌کرومات پتاسیم و اسید سولفوریک غلیظ (Nelson and Summers, ۱۹۸۲) و نیتروژن کل پس از هضم به روش کجلدال (Bremner and Mulvaney, ۱۹۸۲) در دو تکرار اندازه‌گیری شد. مقدار ترکیبات قابل حل در آب (WSC) نمونه‌ها بوسیله تیمار با آب گرم (Harper and Lynch, ۱۹۸۱a) اندازه‌گیری شد. برای تعیین همی‌سلولز، سلولز و لیگنین از روش مرحله‌ای یا گام به گام استفاده شد (Goering and Van Soest, ۱۹۷۰). در این روش، در سه گام متوالی با افزودن دترجنت خنثی (ND) و اسیدی (AD) و سپس اسید سولفوریک ۷۲ درصد (یا پرمنگنات پتاسیم) به ترتیب مقادیر همی‌سلولز، سلولز و لیگنین به روش وزنی اندازه‌گیری شد. با استفاده از محلول دترجنت خنثی ترکیبات به آسانی قابل هضم

(Cell Content) حل شده و رسوب باقیمانده شامل ترکیبات اولیه دیواره سلولی گیاهی (سلولز، لیگنین و همی‌سلولز) تعیین گردید. در رسوب باقیمانده همی‌سلولز، به دو روش اسید سولفوریک ۷۲ درصد و پرمنگنات پتاسیم میزان سلولز و لیگنین اندازه‌گیری شد. از اسید سولفوریک ۷۲ درصد برای حذف سلولز به منظور جداسازی لیگنین و سپس از سوزاندن (Ignite) رسوبات باقیمانده در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد برای جداسازی خاکستر غیرقابل حل در اسید و لیگنین استفاده شد. در روش پرمنگنات پتاسیم بخش محلول در پرمنگنات پتاسیم اشباع به عنوان لیگنین و بخش غیرمحلول به عنوان سلولز و خاکستر نامحلول در نظر گرفته شد. در این تحقیق برای مقایسه میزان برآورد دو فرکشن (سلولز و لیگنین) در بقایای گیاهی مورد مطالعه، از هر دو روش استفاده شد. در نهایت مقدار فرکشن‌های گیاهی اندازه‌گیری شده با استفاده از نرم افزار GenStat۱۲ تجزیه واریانس و از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن میانگین‌ها مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین نمونه‌های گیاهی از لحاظ سلولز تعیین شده به وسیله اسید سولفوریک و پرمنگنات پتاسیم، همی‌سلولز، خاکستر (Ash)، نیتروژن کل (Total N) و نسبت C/N در سطح احتمال ۱ درصد و مقدار ترکیبات محلول در آب در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. مطابق این نتایج بیشترین تغییرات بین داده‌ها به ترتیب مربوط به لیگنین استخراج شده با اسید سولفوریک (۲/۲۷ درصد) و پرمنگنات پتاسیم (۹/۱۹ درصد) و کمترین تغییرات به ترتیب نیتروژن کل (۱/۴ درصد) و کربن کل (۷/۴ درصد) می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱ - میانگین مربعات و سطح معنی‌داری فرکشن‌های گیاهی در بقایای گیاهان مورد بررسی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		سلولز (H_2SO_4)	لیگنین (H_2S O_2)	سلولز ($KMnO_4$)	لیگنین ($KMnO_4$)	همی‌سلولز	خاکستر (Ash)
نوع بقایای گیاهی	۴	۲۱۲ **	۸/۹ ns	۲/۱۰۹ *	۴/۷ ns	۳/۱۸۹ **	۹/۲۷ **
خطا	۵	۷	۴/۵	۱/۲۷	۵	۱۶	۱
ضریب تغییرات (%)		۹/۸	۲/۲۷	۸/۱۷	۹/۱۹	۱۷	۶/۹

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		Cell Content	WSC	Total C	Total N	C/N
بقایای گیاهی	۴	۳۳۳ ns	۱۷۹ *	۱/۶ ns	۳۷/۲ **	۳/۱۰۲۸ **
خطا	۵	۱۷	۲/۲۱	۴	۰۳/۰	۴/۱۰
ضریب تغییرات (%)		۱۱	۸/۱۱	۷/۴	۱/۴	۵/۸

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

همچنین نتایج تجزیه واریانس برای دو روش اندازه‌گیری سلولز و لیگنین (اسید سولفوریک و پرمنگنات پتاسیم) نشان داد که اثر نوع بقایای گیاهی بر روی سلولز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. این در حالی است که مقدار لیگنین بقایا در روش‌های اندازه‌گیری تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین اثر روش اندازه‌گیری سلولز و لیگنین تنها روی لیگنین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. روش اندازه‌گیری تأثیر معنی‌داری روی سلولز اندازه‌گیری شده در بقایای گیاهی نداشت (جدول ۲). به تعبیر دیگر، اگرچه بقایای گیاهی در ظاهر دارای لیگنین‌های مشابهی بودند اما دو عصاره‌گیر اسید سولفوریک و پرمنگنات پتاسیم توانستند مقدار متفاوتی از لیگنین را از بقایا استخراج نمایند.

جدول ۲- میانگین مربعات و سطح معنی‌داری فرکشن‌های سلولز و لیگنین در تیمارهای مورد بررسی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		سلولز	لیگنین
بقایای گیاهی	۴	۳۱۱ **	۵/۱۶ ns
خطا	۵	۳/۲۰	۴/۴
روش اندازه‌گیری	۱	۷/۱ ns	۹/۳۶ *
بقایای گیاهی × روش اندازه‌گیری	۴	۲/۱۰ ns	۷/۰ ns
خطا	۵	۸/۱۳	۱/۶

ضریب تغییرات (درصد)	۵/۱۲	۸/۲۴

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

نتایج مقایسه میانگین فرکشن‌های اندازه‌گیری شده نشان داد که بیشترین مقدار سلولز بوسیله هر دو روش H_2SO_4 و $KMnO_4$ به ترتیب با مقادیر ۴۴ و ۵/۳۸ درصد مربوط به آفتابگردان بود که روش اسید سولفوریک ۵/۵ درصد سلولز بیشتری را نسبت به روش پرمنگنات پتاسیم استخراج نمود. کمترین مقدار سلولز مربوط به شبدر و ماشک بود. میزان سلولز آفتابگردان با روش H_2SO_4به ترتیب ۳/۲ و ۱/۲ برابر نسبت به سلولز شبدر و ماشک و با روش $KMnO_4$به ترتیب ۸/۱ و ۷/۱ برابر بیشتر بود (جدول ۵). لیگنین اندازه‌گیری شده برای تمامی بقایای مورد مطالعه بوسیله $KMnO_4$بیشتر از لیگنین برآورد شده بوسیله H_2SO_4 بود (جدول ۳). علت برآورد زیاد لیگنین توسط $KMnO_4$ به این دلیل است که ترکیبات فنولیک و سایر ترکیبات غیراشباع شده مانند تانن‌ها، رنگدانه‌ها یا بعضی از پروتئین‌ها به طور کامل در مرحله افزودن دترجنت اسیدی (ADF) حذف نشده و با $KMnO_4$ واکنش داده و به عنوان لیگنین محسوب می‌گردد (Van Soest and Wine, ۱۹۶۸). بقایای شبدر و گندم بیشترین میزان همی‌سلولز و آفتابگردان کمترین مقدار همی‌سلولز را داشتند. همی‌سلولز بقایای شبدر و گندم به ترتیب ۱/۳ و ۸/۲ برابر همی‌سلولز آفتابگردان بود. در بین بقایای مورد مطالعه، آفتابگردان بیشترین مقدار خاکستر و ذرت کمترین میزان خاکستر را دارا بود. بیشترین مقدار محتوی سلولی مربوط به ماشک و کمترین آن مربوط به کاه و کلش گندم بود. کربن بقایای مورد مطالعه تا حدودی مشابه هم می‌باشد و اختلاف معنی‌داری باهم یکدیگر ندارند ولی درصد نیتروژن کل بقایا بسیار متفاوت از یکدیگر هستند (جدول ۳). لذا می‌توان استنباط نمود، اختلافی که بین نسبت C/N بقایای گیاهی مورد مطالعه وجود دارد، ناشی از اختلاف نیتروژن در گیاهان مورد مطالعه می‌باشد و اختلاف درصد کربن در بقایای آنها نقش چندانی در تفاوت نسبت C/N ندارد.

جدول ۳ - مقایسه میانگین فرکشن‌های گیاهی در بقایای گیاهان مورد بررسی

بقایای گیاهی	سلولز (%) (H_2SO_4)	لیگنین (%) (H ($_2SO_4$)	سلولز (%) ($KMnO_4$)	لیگنین (%) ($KMnO_4$)	همی‌سلولز (%)	خاکستر (%) (Ash)
شبدر	c ۱۹	a ۹/۷	b ۲۱	a ۱/۱۱	a ۳۴	b ۶/۹
ذرت	b ۳/۳۰	a ۲/۷	ab ۵/۳۱	a ۲/۱۰	ab ۲/۲۵	c ۵/۴
آفتابگردان	a ۴۴	a ۴/۱۲	a ۵/۳۸	a ۱/۱۴	c ۹/۱۰	a ۱/۱۴
ماشک	c ۲۱	a ۷	b ۵/۲۲	a ۹	bc ۵/۱۵	a ۱۳
گندم	b ۱/۳۵	a ۳/۸	ab ۳۳	a ۱۲	a ۱/۳۰	b ۲/۱۰
LSD۵%	۸/۶	۶	۴/۱۳	۸/۵	۴/۱۰	۵/۲

بقایای گیاهی	(%) Cell Content	(%) WSC	Total C (%)	(%) Total N	C/N
شبدر	ab۳۵	a ۴۰	a ۲/۴۳	a ۷/۲	c ۱۶
ذرت	b۴۴	a ۴۲	a ۵/۴۴	b ۷۵/۰	a ۶/۵۹
آفتابگردان	bc۲۶	bc ۲۵	a ۱/۴۰	b ۰۵/۱	b ۲/۳۸
ماشک	a۵۵	ab ۳۳	a ۱/۴۱	a ۹/۲	c ۳/۱۴
گندم	d۲۴	c ۲۰	a ۹/۴۲	b ۷/۰	a ۳/۶۱
LSD۵%	۷/۱۰	۴/۱۴	۱۲۱/۵	۴۷۴/۰	۳/۸

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد اختلافات معنی‌داری در سطح احتمال ۵% به روش آزمون دانکن می‌باشند.

بین لیگنین و سلولز استخراج شده توسط H_2SO_4همبستگی مثبت و معنی‌دار (*۶۶/۰) وجود دارد. بین سلولز اندازه‌گیری شده توسط $KMnO_4$و H_2SO_4 نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری (**۸۷/۰) مشاهده شد. همبستگی بین محتوی سلولی و سلولز اندازه‌گیری شده با H_2SO_4 منفی (*۶۷/۰-) بود. بین نیتروژن کل و سلولز اندازه‌گیری شده توسط اسید سولفوریک (**۸۱/۰-) و پرمنگنات پتاسیم (**۷۷/۰-) رابطه منفی و معنی‌داری وجود داشت. در نهایت بین نیتروژن کل و نسبت C/N همبستگی منفی معنی‌دار (**۹۵/۰-)، اما با کربن آلی همبستگی معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۴). این نتایج نشان می‌دهد با اندازه‌گیری لیگنین از طریق اسید سولفوریک می‌توان سلولز و برعکس از طریق تعیین میزان سلولز، لیگنین را در بقایای گیاهان مورد بررسی پیش‌بینی نمود. چنین وضعیتی برای سلولز با دو روش اسید سولفوریک و پرمنگنات پتاسیم، سلولز استخراج شده توسط اسید سولفوریک و محتوی سلولی، سلولز استخراج شده با هر دو روش و نیتروژن کل وجود دارد. به تعبیر دیگر با تعیین سلولز می‌توان لیگنین، محتوی سلولی، نیتروژن کل بقایای گیاهی را نیز تعیین نمود. همچنین ضرایب همبستگی نشان داد، اختلاف بین نسبت C/N موجود در بقایای گیاهی (جدول ۳) ناشی از اختلاف نیتروژن کل آنها است نه میزان کربن موجود در آنها، زیرا که بین C/N و کربن آلی همبستگی معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۴).

جدول ۴- ضرایب همبستگی پیرسون بین فرکشن‌های گیاهی اندازه‌گیری شده در گیاهان مورد بررسی

	سلولز (H_2SO_4)	لیگنین (H_2SO_4)	سلولز ($KMnO_4$)	لیگنین ($KMnO_4$)	همی‌سلولز	Ash	Cell Content	WSC	Total C	Total N	C/N
سلولز (H_2SO_4)	۱										
لیگنین (H_2SO_4)	*۰.۶۶	۱									
سلولز ($KMnO_4$)	**۰.۸۷	*۰.۶۹	۱								
لیگنین ($KMnO_4$)	۰.۵۲	۰.۴۶	۰.۲۸	۱							
همی سلولز	۰.۴۲-	۰.۵۲-	۰.۴۲-	۰.۱۹-	۱						
Ash	۰.۲۱	۰.۵۱	۰.۱۰	۰.۳۲	۰.۶۲-	۱					
Cell Content	*۰.۶۷-	۰.۵۹-	۰.۵۸-	۰.۵۶-	۰.۱۸-	۰.۱۵-	۱				
WSC	۰.۶۰-	۰.۲۹-	۰.۴۹-	۰.۳۱-	۰.۱۶	۰.۵۰-	۰.۵۸	۱			
Total C	۰.۳۵-	۰.۵۷-	۰.۱۹-	۰.۱۰-	۰.۶۳	۰.۷۵-	۰.۱۱	۰.۲۲	۱		
Total N	**۰.۸۱-	۰.۳۳-	**۰.۷۷-	۰.۳۹-	۰.۰۲	۰.۳۴	۰.۵۹	۰.۳۶	۰.۱۵-	۱	
C/N	۰.۶۱	۰.۰۶	۰.۶۱	۰.۲۵	۰.۱۷	۰.۵۱-	۰.۴۳-	۰.۲۹-	۰.۳۵	**۰.۹۵-	۱

منابع

کلباسی، م. ۱۳۷۵. وضعیت مواد آلی در خا کهای ایران و نقش کود کمپوست. خلاصه مقالات پنجمین کنگره علوم خاك ایران تهران. صفحه ۷.

Bremner J.M. and Mulvaney C.S. ۱۹۸۲. Nitrogen-total. in: A.L. Page (Ed.), Methods of Soil Analysis. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, Pp. ۵۹۵-۶۲۴.

Goering H.K. and Van Soest, P.J. ۱۹۷۰. Forage fiber analysis (Apparatus, reagent, procedures and some applications). Agric. Handbook, No. ۳۷۹, ARS-USDA, Washington, DC.

Harper S.H.T. and Lynch J.M. ۱۹۸۱a. The chemical components and decomposition of wheat straw leaves. internodes and nodes. Journal of the Science of Food and Agriculture, ۳۲: ۱۰۵۷-۱۰۶۲.

Martens D.A. ۲۰۰۰. Plant residue biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration. Soil Biology and Biochemistry, ۳۲:۳۶۱-۳۶۹.

Nelson D.W. and Sommers, L.P. ۱۹۸۲. Total carbon, organic carbon and organic matter. in: A.L. Page (Ed.), Methods of Soil Analysis. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, Pp. ۵۳۹-۵۷۹.

Palm C.A., Gachengo C.N., Delve R.J., Cadisch G., and Giller K.E. ۲۰۰۱. Organic inputs for soil fertility management in tropical agroecosystems: application of an organic resource database. Agriculture, Ecosystems and Environment, ۸۳:۲۷-۴۲.

Raiesi F. ۱۹۹۸. Impacts of elevated atmospheric CO_2 on litter quality, litter decomposability and nitrogen turnover rate of two oak species in a Mediterranean forest ecosystem. Global Change Biol. ۴: ۶۶۷-۶۷۸.

Raiesi F. ۲۰۰۶. Carbon and N mineralization as affected by soil cultivation and crop residue in a calcareous wetland ecosystem in Central Iran. Agriculture, Ecosystems and Environment, ۱۱۲: ۳-۲۰.

Rowland A.P. and Roberts J.D. ۱۹۹۴. Lignin and cellulose fractionation in decomposition studies using acid-detergent fibre methods. Communications in Soil Science and Plant Analysis, ۲۵: ۲۶۹-۲۷۷.

Scott N.A. and Binkly D. ۱۹۹۷. Foliage litter quality and annual net N mineralization: Comparision across North American forests. Oecologia. ۱۱۱: ۱۵۱-۱۵۹.

Van Soest P.J. and Wine R.H. ۱۹۶۸. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. Journal of the AOAC. Offic. Anal. Chem. ۵۱: ۷۸۰-۷۸۵.

Abstract

To determine the biochemical composition and fractions of plant residues and to compare two different methods for measuring cellulose and lignin, five plant residues consist of wheat, corn, sunflower, vetch and clover were selected. The results showed that the difference between the cellulose determined by H_2SO_4 and $KMnO_4$, hemicellulose, ash, total nitrogen, C/N ratio and the amount of water soluble compounds were significant. Lignin measured by $KMnO_4$ method in all plant residues was estimated higher than H_2SO_4 method. Sunflower residues had the highest amounts of cellulose, lignin and ash. Clover had the highest amount of hemicellulose and vetch had the highest level of total nitrogen and Cell Content. Carbon did not vary significant, but the percentage of total nitrogen very different from each other, it can be concluded that the difference between the C/N ratio in these plant residues, resulting from the difference of nitrogen.